



A Sysmex Group Company



Instrukcja użytkowania (IFU)

REF.: CE-LPA 001-S / CE-LPA 001 /
CE-LPA 001-30 / CE-LPA 001-50

Prenatal Enumeration Probe Kit



TYLKO DO UŻYTKU PROFESJONALNEGO



Więcej informacji i inne języki dostępne na stronie ogt.com/IFU

Przeznaczenie

Zestaw CytoCell® Prenatal Enumeration Probe Kit to jakościowy, nieautomatyzowany test wykonywany metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) przeznaczony do detekcji centromerowych regionów chromosomowych alfa Xp11.1-q11.1, Yp11.1-q11.1 i 18p11.1-q11.1 oraz regionów chromosomowych 13q14.2 i 21q22.1 w utrwalonych w roztworze Carnoy (metanol / kwas octowy w stosunku 3:1) komórkach uzyskanych z próbek płynu owodniowego w celu zliczania chromosomów X, Y, 13., 18. i 21. w przypadku ciąży wysokiego ryzyka z podejrzeniem zespołu Turnera, Patau, Edwardsa lub Downa.

Wskazania do stosowania

Wyrób ten zaprojektowano jako produkt uzupełniający inne testy kliniczne i laboratoryjne wykonywane w ramach przyjętych ścieżek diagnostycznych i opieki klinicznej, takich jak przesiewowe badania ultrasonograficzne i testy biochemiczne, w przypadku których znajomość statusu liczby kopii centromerowych regionów chromosomowych alfa Xp11.1-q11.1 i 18p11.1-q11.1 oraz regionów chromosomowych 13q14.2 i 21q22.1 w istotny sposób wpływałaby na postępowanie kliniczne.

Ograniczenia

Wyrób ten jest przeznaczony do wykrywania materiału chromosomowego zawierającego regiony centromerowe, do których wiążą się zielone, pomarańczowe i morskie klony ze składnika Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe w przypadku chromosomów odpowiednio X, Y i 18. Wyrób ten może nie umożliwić wykrycia nadatków lub ubytków genomowych, do których doszło poza tymi regionami, lub częściowych ubytków lub nadatków, do których doszło w tych regionach.

Wyrób ten jest również przeznaczony do wykrywania materiału chromosomowego zawierającego regiony chromosomowe 13q14.2 i 21q22.1, do których wiążą się zielone i pomarańczowe klony ze składnika Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe. Produkt ten może nie umożliwić wykrycia nadatków lub ubytków genomowych, do których doszło poza tymi regionami, lub częściowych ubytków lub nadatków, do których doszło w tych regionach.

Wyrób ten nie jest przeznaczony do: użytku jako samodzielny produkt diagnostyczny, użytku jako towarzyszący test diagnostyczny, populacyjnych badań przesiewowych, badań przyłóżkowych ani samostosowania.

Wyrób ten nie został zatwierdzony do stosowania dla typów próbek, chorób ani celów innych niż określone w części dotyczącej przeznaczenia. Wyrób ten nie został zatwierdzony do wykrywania nadatków chromosomów X i/lub Y.

Wyrób ten należy traktować jako uzupełnienie innych diagnostycznych testów laboratoryjnych. Z tego względu nie należy inicjować żadnych działań terapeutycznych wyłącznie na podstawie wyniku uzyskanego metodą FISH.

Za zgłaszanie i interpretację wyników uzyskanych metodą FISH powinien odpowiadać personel posiadający odpowiednie kwalifikacje, zgodne z profesjonalnymi standardami praktyki, a czynności te powinny odbywać się z uwzględnieniem innych istotnych wyników testów, informacji klinicznych i diagnostycznych.

Ten wyrób jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego w laboratorium. Nieprzestrzeganie protokołu może wpłynąć na skuteczność wyrobu i doprowadzić do uzyskania fałszywie pozytywnych/negatywnych wyników.

Zasady działania testu

Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH) to technika, która umożliwia wykrywanie sekwencji DNA na chromosomach metafazowych lub w jądrach interfazowych obecnych w utrwalonych próbkach cytogenetycznych. Technika ta wykorzystuje sondy DNA, które hybrydują do całych chromosomów lub pojedynczych unikalnych sekwencji, i stanowi istotne uzupełnienie klasycznych metod cytogenetycznych. Ostatnie odkrycia wskazują, że ta wartościowa technika może być obecnie wykorzystywana jako kluczowe narzędzie diagnostyczne w chromosomalnych analizach prenatalnych, hematologicznych i patologicznych. Po utrwaleniu i denaturacji docelowa sekwencja DNA staje się dostępna do przyłączenia do zdenaturowanej w podobny sposób, fluorescencyjnie wyznakowanej sondy DNA o komplementarnej sekwencji. Po hybrydyzacji niezwiązane i nieswoiste związane sondy DNA są usuwane, a DNA jest barwione kontrastowo w celu jego uwidocznienia. Następnie dzięki mikroskopii fluorescencyjnej możliwe jest uwidocznienie sond zhybryzowanych do materiału docelowego.

Informacje o sondzie

Molekularna analiza cytogenetyczna odgrywa kluczową rolę w prenatalnych badaniach ciąży wysokiego ryzyka, umożliwiając dokładną identyfikację nieprawidłowości chromosomowych i ocenę ryzyka ich ponownego wystąpienia (dziedziczenia). Najczęstszymi nieprawidłowościami chromosomowymi są aneuploidie, definiowane jako nieprawidłowa liczba kopii chromosomu. U osób dotkniętych tą nieprawidłowością zazwyczaj występuje trisomia (trzy kopie chromosomu) lub monosomia (pojedyncza kopia chromosomu)¹. Do dobrze znanych, klinicznie istotnych aneuploidii należą trisomie 13., 18. i 21. chromosomu, a także monosomia chromosomu X. Nieprawidłowości te w znacznym stopniu przyczyniają się do zaburzeń rozwojowych i niekorzystnych wyników reprodukcyjnych, a także należą do najczęstszych wskazań do inwazyjnej diagnostyki prenatalnej².

Trisomia 21. chromosomu (zespół Downa), najczęstsza trisomia autosomalna umożliwiająca przeżycie, charakteryzuje się upośledzeniem funkcji poznawczych, wrodzonymi anomaliami serca i wielokładowymi stanami chorobowymi oraz pozostaje kluczowym wskazaniem do prenatalnych badań genetycznych^{3,4}. Trisomia 13. chromosomu (zespół Patau) charakteryzuje się wadami rozwojowymi mózgu (holoprocencefalia), dysmorfia twarzy, anomaliami ocznymi, polidaktylią pozaosiową, rozwojowymi wadami trzewnymi (kardiopatia) i ciężkim opóźnieniem psychoruchowym⁵. Trisomia 18. chromosomu (zespół Edwardsa) wiąże się z ciężkimi wrodzonymi wadami rozwojowymi, wysoką śmiertelnością okołoporodową i dobrze zdefiniowanymi fenotypami ultrasonograficznymi, co podkreśla konieczność wdrażania dokładnego wykrywania prenatalnego i potwierdzania genetycznego^{6,7}. Monosomia chromosomu X (zespół Turnera), nazywana również wrodzoną hipoplazją jajników, stanowi najczęstszą nieprawidłowość chromosomów płciowych u kobiet i wynika z całkowitego lub częściowego braku jednego chromosomu X⁸. Diagnostykę prenatalną oferuje się w przypadku ciąży wysokiego ryzyka, w przypadku których istnieje zwiększone ryzyko wystąpienia nieprawidłowości chromosomowych, takich jak trisomia 13., 18. i 21. chromosomu oraz monosomia chromosomu X. Hybrydyzacja FISH to sprawdzona molekularna metoda cytogenetyczna umożliwiająca szybkie wykrycie i określenie liczby kopii chromosomów w jądrach interfazowych. Hybrydyzacja FISH umożliwia ukierunkowane wykrywanie powszechnych aneuploidii i zapewnia szybkie wyniki wspomagające podejmowanie decyzji klinicznych. Jest powszechnie stosowana w nowoczesnej diagnostyce aneuploidii, szczególnie w sytuacjach, w których wymagane jest szybkie potwierdzenie statusu liczby kopii chromosomu^{9,10,11}.

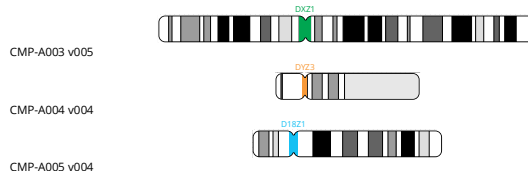
Specyfikacja sond

Składnik LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Centromer chromosomu X, Xp11.1-q11.1 (DXZ1), kolor zielony

Centromer chromosomu Y, Yp11.1-q11.1 (DYZ3), kolor pomarańczowy

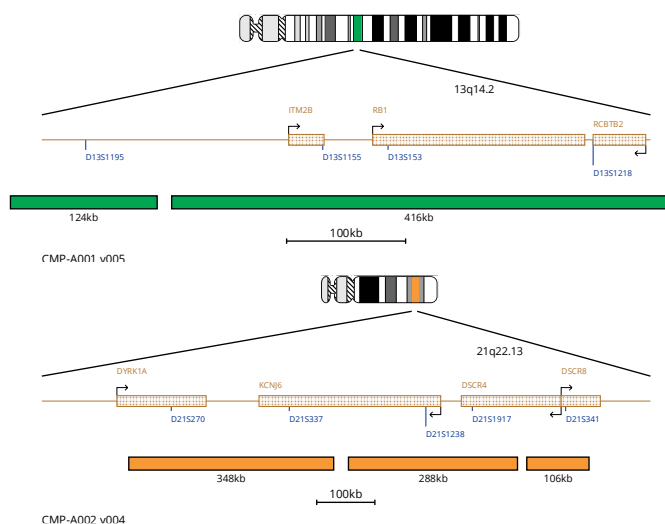
Centromer chromosomu 18., 18p11.1-q11.1 (D18Z1), kolor morski



Składnik LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Unikalna sekwencja chromosomu 13., 13q14.2, kolor zielony

Unikalna sekwencja chromosomu 21., 21q22.13, kolor pomarańczowy



Zestaw zawiera dwa składniki zawierające sondy przeznaczone do dwóch oddzielnych hybrydyzacji.

Składnik LPA002

Składnik LPA002 to mieszanina zielonych, pomarańczowych i morskich bezpośrednio wyznakowanych fluorescencyjnych sond DNA:

- Zielona sonda DXZ1 bezpośrednio znakuje sekwencje alfa-satelitarnego DNA w regionie DXZ1 chromosomu X.
- Pomarańczowa sonda DY33 bezpośrednio znakuje sekwencje alfa-satelitarnego DNA w regionie DY33 chromosomu Y.
- Morska sonda D18Z1 bezpośrednio znakuje sekwencje alfa-satelitarnego DNA w regionie D18Z1 chromosomu 18.

Składnik LPA003

Składnik LPA003 to mieszanina zielonych i pomarańczowych bezpośrednio wyznakowanych fluorescencyjnych sond DNA zawierających unikalne sekwencje:

- Mieszanina zielonych sond zawiera sondę o długości 124 kZ i sondę o długości 416 kZ, które w regionie 13q14.2 obejmują geny ITM2B, RB1 i RCBTB2, w tym markery D13S1195, D13S1155, D13S153 i D13S1218.
- Mieszanina pomarańczowych sond zawiera sondę o długości 348 kZ, sondę o długości 288 kZ i sondę o długości 106 kZ, które w regionie 21q22.13 obejmują geny DYRK1A, KCNJ6, DSCR4 i DSCR8, w tym markery D21S270, D21S337, D21S1238, D21S1917 i D21S341.

Dostarczane materiały

Sonda: 50 µl na fiolkę w zestawie 5 testów, 100 µl na fiolkę w zestawie 10 testów, 300 µl na fiolkę w zestawie 30 testów, 500 µl na fiolkę w zestawie 50 testów. Składniki zawierające sondy są dostarczane we wstępnie wymieszanym roztworze hybrydyzacyjnym (formamid <65%; siarczan dekstranu <20 mg; 20x stężony roztwór soli fizjologicznej i cytrynianu sodu (SSC) <10%) i są gotowe do użycia.

Barwnik kontrastowy: 150 µl na fiolkę w zestawie 5 testów, 500 µl na fiolkę w zestawie 10 testów, 1000 µl na fiolkę w zestawie 30 testów, 1200 µl na fiolkę w zestawie 50 testów.

Barwnikiem kontrastowym jest odczynnik DAPI Antifade ES (0,125 µg/ml DAPI (4,6-diamidyno-2-fenylindol) w środku do zatapiania na bazie glicerolu).

Ostrzeżenia i środki ostrożności

1. Do diagnostyki *in vitro*. Wyłącznie do profesjonalnego użytku laboratoryjnego.
2. Operatorzy muszą zawsze zapoznać się i postępować zgodnie z prawidłową i najnowszą wersją instrukcji użytkowania.
3. Mieszaniny sond zawierają formamid, który wykazuje działanie teratogenne; nie wdychać oparów ani nie dopuszczać do kontaktu ze skórą. Podczas używania należy zachować ostrożność; nosić rękawiczki i fartuch laboratoryjny.
4. Podczas używania barwnika DAPI należy zachować ostrożność; nosić rękawiczki i fartuch laboratoryjny.
5. Nie używać, jeśli fiolki są uszkodzone lub ich zawartość została w jakikolwiek sposób naruszona.
6. W celu zapewnienia bezpiecznego usuwania tego produktu postępować zgodnie z odpowiednimi lokalnymi przepisami dotyczącymi usuwania oraz zaleceniami zawartymi w karcie charakterystyki. Dotyczy to również zawartości uszkodzonego zestawu do testów.
7. Wszystkie pozostałości użytych odczynników oraz wszelkie inne zanieczyszczone materiały jednorazowe należy usuwać zgodnie z procedurami obowiązującymi dla odpadów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych. Każde laboratorium jest odpowiedzialne za postępowanie z odpadami stałymi i płynnymi stosownie do ich właściwości i stopnia zagrożenia oraz przetwarzanie i usuwanie ich (lub zlecenie ich przetwarzania i usuwania) zgodnie z wszelkimi obowiązującymi przepisami.
8. Operatorzy muszą być w stanie rozróżniać morski, pomarańczowy i zielony kolor.
9. Nieprzestrzeganie określonego protokołu oraz nieużywanie określonych odczynników i określonego sprzętu może wpłynąć na skuteczność wyrobu i doprowadzić do uzyskania fałszywie pozytywnych/negatywnych wyników.

10. Sondy nie należy rozcieńczać ani mieszać z innymi sondami.
11. Niezastosowanie 10 µl sondy podczas fazy denaturacji wstępnej wykonywanej w ramach protokołu może wpłynąć na skuteczność wyrobu i doprowadzić do uzyskania wyników fałszywie pozytywnych/negatywnych.
12. Wszystkie produkty powinny zostać zwalidowane przed użyciem.
13. Kontrole wewnętrzne należy przeprowadzać z wykorzystaniem populacji prawidłowych komórek w badanych próbkach.
14. Należy stosować odpowiednie środki ostrożności, aby zapobiec zanieczyszczeniu pomiędzy fiolkami zawierającymi składniki LPA002 i LPA003.

Definicje temperatur

- -20°C / stan zamrożony / w zamrażarce: od -25°C do -15°C
- 37°C: +37°C ±1°C
- 72°C: +72°C ±1°C
- 75°C: +75°C ±1°C
- Temperatura pokojowa (RT): od +15°C do +25°C

Przechowywanie i używanie produktów

Zestaw należy przechowywać w zamrażarce w temperaturze od -25°C do -15°C do upływu terminu ważności wskazanego na etykiecie zestawu. Fiolki z barwnikiem kontrastowym i sondami należy przechowywać w ciemnym miejscu.



Sonda FISH, barwnik kontrastowy DAPI Antifade ES i roztwór hybrydyzacyjny zachowują stabilność przez wszystkie cykle zamrażania i rozmrażania wykonywane podczas standardowego użytkowania (jeden cykl jest definiowany jako wyjęcie fiolki z zamrażarki i ponowne umieszczenie jej w zamrażarce).

Sondy FISH: 5 cykli w przypadku zestawu 5 testów, 10 cykli w przypadku zestawu 10 testów, 30 cykli w przypadku zestawu 30 testów, 50 cykli w przypadku zestawu 50 testów. **Barwnik kontrastowy:** 10 cykli w przypadku zestawu 5 testów, 20 cykli w przypadku zestawu 10 testów, 60 cykli w przypadku zestawu 30 testów, 100 cykli w przypadku zestawu 50 testów. Należy możliwie zminimalizować i ograniczyć ekspozycję produktu na światło. Składniki należy przechowywać w dostarczonym pojemniku nieprzepuszczającym światła. Elementy zestawu używane lub przechowywane w warunkach innych niż wskazane na etykietach, mogą nie działać zgodnie z oczekiwaniami i negatywnie wpłynąć na wyniki oznaczenia. Należy dołożyć wszelkich starań, aby ograniczyć ekspozycję produktu na światło.

Sprzęt i materiały wymagane, ale niedostarczane

Należy używać skalibrowanego sprzętu:

1. Płyta grzewcza (ze stabilną płytą i możliwością dokładnej kontroli temperatury do 80°C)
2. Skalibrowane mikropipety i końcówki umożliwiające przenoszenie różnych objętości cieczy w zakresie 1–200 µl.
3. Łażnia wodna z możliwością dokładnej kontroli temperatury na poziomie 37°C i 72°C
4. Probówki mikrowirówkowe (0,5 ml)
5. Mikroskop fluorescencyjny (patrz sekcja Zalecenia dotyczące mikroskopu fluorescencyjnego).
6. Mikroskop z kontrastem fazowym
7. Czyste barwnicze Coplina z tworzywa sztucznego, ceramiki lub szkła zaroopornego
8. Szczypczyki
9. Skalibrowany pH-metr (lub papierki wskaźnikowe pH umożliwiające pomiar pH w zakresie 6,5–8,0)
10. Pojemnik zapewniający dużą wilgotność powietrza
11. Olejek immersyjny odpowiedni do obiektów mikroskopowych klasy fluorescencyjnej
12. Wirówka laboratoryjna
13. Szkiełka mikroskopowe
14. Szkiełka nakrywkowe o wymiarach 24x24 mm
15. Stoper
16. Inkubator nastawiony na temperaturę 37°C
17. Klej kauczukowy
18. Wytrząsarka
19. Cylindry miarowe
20. Mieszadło magnetyczne
21. Skalibrowany termometr

Opcjonalny sprzęt niedostarczany

1. Komora do suszenia próbek do badań cytogenetycznych

Odczynniki wymagane, ale niedostarczane

1. 20x roztwór soli fizjologicznej i cytrynianu sodu (SSC)
2. 100-procentowy etanol
3. Środek Tween-20
4. Wodorotlenek sodu (NaOH), 1 M
5. Kwas solny (HCl), 1 M
6. Woda oczyszczona

Zalecenia dotyczące mikroskopu fluorescencyjnego

W celu zapewnienia optymalnej wizualizacji zalecane jest używanie 100-watowej lampy rtęciowej lub równoważnej lampy i obiektów planapochromatycznych umożliwiających stosowanie olejku immersyjnego przy powiększeniu 60/63x lub 100x. Fluorofory użyte w tym zestawie sond charakteryzują się następującymi długościami fal wzbudzenia i emisji:

Fluorofor	Wzbudzenie _{maks.} [nm]	Emisja _{maks.} [nm]
Morski	418	467
Zielony	495	521
Pomarańczowy	551	572

Należy upewnić się, że w mikroskopie zamontowane są odpowiednie filtry wzbudzenia i emisji, które obejmują wymienione powyżej długości fal.

Do jednoczesnej obserwacji zielonego i pomarańczowego fluoroforu i barwnika kontrastowego optymalnie nadaje się potrójny filtr pasmowo-przepustowy DAPI/FITC/TRITC. Morski fluorofor wykazuje swoistość względem widma Aqua i DEAC (wymagany jest pojedynczy filtr pasmowo-przepustowy Aqua lub DEAC).

Przed użyciem mikroskopu fluorescencyjnego należy sprawdzić, czy działa on prawidłowo. Należy stosować olejek immersyjny odpowiedni do mikroskopii fluorescencyjnej o składzie odpowiednim do niskiej autofluorescencji. Unikać mieszania barwnika DAPI antifade z mikroskopowym olejkim immersyjnym, ponieważ spowoduje to zaciemnienie sygnałów. Przestrzegać zaleceń wytwórcy dotyczących okresu żywotności lampy i wieku filtrów.

Przygotowanie próbek

Zestaw jest przeznaczony do stosowania na utrwalonych w roztworze Carnoya (metanol / kwas octowy w stosunku 3:1) komórkach uzyskanych z próbek płynu owodniowego w celu zliczania chromosomów X, Y, 13., 18. i 21. w przypadku ciężkiego ryzyka z podejrzeniem zespołu Turnera, Patau, Edwardsa lub Downa. Komórki powinny zostać przygotowane zgodnie z wytycznymi obowiązującymi w laboratorium lub placówce. Próbkę płynu owodniowego należy pobierać zgodnie z wytycznymi obowiązującymi w laboratorium lub placówce. Nie należy używać próbek, które wydają się krwawe lub brązowe, ponieważ mogą one zawierać krew matki, co może doprowadzić do uzyskania fałszywych wyników. Należy przygotować próbki suszone na powietrzu na szkiełkach mikroskopowych zgodnie ze standardowymi procedurami cytogenetycznymi. Podręcznik AGT *Cytogenetics Laboratory Manual* zawiera zalecenia dotyczące pobierania próbek, prowadzenia hodowli komórek, zbierania komórek z hodowli oraz przygotowywania preparatów¹².

Przygotowanie roztworów

Roztwory etanolu

Rozcieńczyć 100-procentowy etanol wodą oczyszczoną w określonych poniżej proporcjach i dokładnie wymieszać:

- 70-procentowy etanol — dodać 7 części 100-procentowego etanolu do 3 części wody oczyszczonej
- 85-procentowy etanol — dodać 8,5 części 100-procentowego etanolu do 1,5 części wody oczyszczonej

Przechowywać roztwory przez maksymalnie 6 miesięcy w temperaturze pokojowej w szczelnym pojemniku.

2x stężony roztwór SSC

Rozcieńczyć 1 część 20x stężonego roztworu SSC z 9 częściami wody oczyszczonej i dobrze wymieszać. Zmierzyć pH i doprowadzić je do wartości 7,0 przy użyciu NaOH lub HCl, odpowiednio do potrzeb. Przechowywać roztwór przez maksymalnie 4 tygodnie w temperaturze pokojowej w szczelnym pojemniku.

0,4x stężony roztwór SSC

Rozcieńczyć 1 część 20x stężonego roztworu SSC z 49 częściami wody oczyszczonej i dobrze wymieszać. Zmierzyć pH i doprowadzić je do wartości 7,0 przy użyciu NaOH lub HCl, odpowiednio do potrzeb. Przechowywać roztwór przez maksymalnie 4 tygodnie w temperaturze pokojowej w szczelnym pojemniku.

2x stężony roztwór SSC ze środkiem Tween-20 w stężeniu 0,05%

Rozcieńczyć 1 część 20x stężonego roztworu SSC z 9 częściami wody oczyszczonej. Dodać 5 µl środka Tween-20 na 10 ml roztworu i dobrze wymieszać. Zmierzyć pH i doprowadzić je do wartości 7,0 przy użyciu NaOH lub HCl, odpowiednio do potrzeb. Przechowywać roztwór przez maksymalnie 4 tygodnie w temperaturze pokojowej w szczelnym pojemniku.

Protokół FISH

(Uwaga: Należy zawsze ograniczać ekspozycję sondy na światło w laboratorium)

Przygotowanie preparatu

1. Nanieść próbkę komórek na szkiełko mikroskopowe. Pozostawić do wyschnięcia. **(Opcjonalnie w przypadku korzystania z komory do suszenia próbek do badań cytogenetycznych:** komora powinna mieć temperaturę około 25°C i zapewniać wilgotność 50%, aby umożliwić optymalne naniesienie próbki komórek. Jeśli komora do suszenia próbek do badań cytogenetycznych nie jest dostępna, należy pozostawić preparat pod wyciągiem).
2. Zanurzyć preparat w 2x stężonym roztworze SSC w temperaturze pokojowej (RT) na 2 minuty; nie wstrząsać.
3. Odwodnić preparat, korzystając z szeregu alkoholowego (etanol w stężeniu 70%, 85% i 100%); zanurzać preparat w każdym roztworze alkoholu na 2 minuty w temperaturze pokojowej.
4. Pozostawić do wyschnięcia.

Denaturacja wstępna

5. Wyjąć sondę z zamrażarki i pozostawić ją do ogrzania do temperatury pokojowej. Przed użyciem krótko odwirować próbkę.
6. Wymieszać roztwór sond pipetą w celu zapewnienia jego jednorodności.
7. Pobrać 10 µl roztworu sond na test i przenieść pobraną objętość do próbki mikrowirówkowej. Bezwzględnie włożyć pozostały roztwór sond z powrotem do zamrażarki.
8. Umieścić roztwór sond i szkiełko z próbką na płycie grzewczej o temperaturze 37°C (+/-1°C) na 5 minut w celu ich wstępnego ogrzania.
9. Nanieść 10 µl mieszaniny sond na próbkę komórek i ostrożnie nałożyć szkiełko nakrywkowe. Uszczelnić klejem kauczukowym i poczekać na jego całkowite wyschnięcie.

Denaturacja

10. Denaturować jednocześnie próbkę i mieszaninę sond, ogrzewając szkiełko na płycie grzewczej o temperaturze 75°C (+/-1°C) przez 2 minuty.

Hybrydyzacja

11. Umieścić szkiełko w wilgotnym, światłoszczelnym pojemniku w temperaturze 37°C (+/-1°C) na noc.

Płukania po hybrydyzacji

12. Wyjąć barwnik DAPI z zamrażarki i pozostawić go do ogrzania do temperatury pokojowej.
13. Ostrożnie zdjąć szkiełko nakrywkowe i usunąć wszelkie pozostałości kleju.
14. Zanurzyć szkiełko w 0,4x stężonym roztworze SSC (pH 7,0) w temperaturze 72°C (+/-1°C) na 2 minuty; nie wstrząsać.
15. Pozwolić, aby szkiełko ociekło, a następnie zanurzyć je w 2x stężonym roztworze SSC ze środkiem Tween-20 w stężeniu 0,05% (pH 7,0) w temperaturze pokojowej na 30 sekund; nie wstrząsać.
16. Pozwolić, aby szkiełko ociekło, a następnie nanieść 10 µl barwnika DAPI antifade na każdą próbkę.
17. Przykryć szkiełkiem nakrywkowym, usunąć wszelkie pęcherzyki powietrza i pozostawić szkiełko w ciemności na 10 minut, aby umożliwić zajście reakcji barwnej.
18. Obejrzeć pod mikroskopem fluorescencyjnym (patrz sekcja **Zalecenia dotyczące mikroskopu fluorescencyjnego**).

Zalecenia dotyczące procedury

1. Wypiekanie lub postarzanie preparatów może zmniejszyć fluorescencję sygnału.
2. Stosowanie odczynników innych niż dostarczone lub zalecane przez firmę Cytocell Ltd. może mieć negatywny wpływ na warunki hybrydyzacji.
3. Do pomiaru temperatur roztworów, łaźni wodnych i inkubatorów należy używać skalibrowanego termometru, ponieważ temperatury te są kluczowe dla optymalnego działania produktu.
4. Stężenia, wartości pH i temperatury roztworów wykorzystywanych do płukania są istotne, gdyż mało surowe warunki mogą doprowadzić do nieswoistego wiązania sondy, a zbyt surowe warunki mogą spowodować brak sygnału.
5. Niecałkowita denaturacja może spowodować brak sygnału, a nadmierna denaturacja może również doprowadzić do nieswoistego wiązania.
6. Nadmierna hybrydyzacja może spowodować otrzymanie dodatkowych lub nieoczekiwanych sygnałów.
7. Przed użyciem testu do celów diagnostycznych użytkownicy powinni zoptymalizować protokół dla własnych próbek.
8. Suboptymalne warunki mogą prowadzić do nieswoistego wiązania sondy, które może zostać błędnie zinterpretowane jako sygnał sondy.

Interpretacja wyników

Ocena jakości preparatu

Preparatu nie należy oceniać w następujących przypadkach:

- Sygnały są zbyt słabe, aby można było je analizować przy użyciu pojedynczych filtrów — do analizy można przystąpić tylko wtedy, gdy sygnały są intensywne, wyraźne i łatwe do oceny
- Widoczna jest duża liczba zlepionych / nakładających się na siebie komórek, co utrudnia analizę
- W >50% komórek nie doszło do hybrydyzacji
- Pomiedzy komórkami występuje nadmiar cząstek fluorescencyjnych i/lub widoczne jest „zamglenie” fluorescencyjne, które zakłóca sygnały — w przypadku preparatów optymalnych do oceny to powinno być ciemne lub czarne i klarowne
- Nie można rozróżnić granic jąder komórkowych lub nie są one nienaruszone

Wytyczne dotyczące analizy

- Każda próbka powinna być analizowana i interpretowana przez dwóch analityków. Wszelkie rozbieżności powinny zostać rozwiązane w wyniku oceny dokonanej przez trzeciego analityka
- Każdy analityk powinien posiadać odpowiednie kwalifikacje zgodne z normami krajowymi
- Każdy analityk powinien dokonać niezależnej oceny wystarczającej liczby jąder komórkowych dla każdej próbki, tak aby łączne oceny analityków spełniały minimalne kryteria określone w wytycznych placówki oraz wytycznych regionalnych lub krajowych. Pierwszy analityk powinien rozpocząć analizę od lewej strony preparatu, a drugi od prawej strony preparatu
- Każdy analityk powinien zapisać własne wyniki w odrębnym arkuszu
- Należy analizować wyłącznie nienaruszone jądra komórkowe; nie wolno analizować jąder nakładających się na siebie, zlepionych, pokrytych resztkami cytoplazmy ani jąder wykazujących wysoki stopień autofluorescencji
- Należy unikać obszarów, w których występuje nadmierna ilość resztek cytoplazmy lub nieswoista hybrydyzacja

- Intensywność sygnału może się różnić nawet w obrębie jednego jądra komórkowego. W takich przypadkach należy użyć filtrów pojedynczych i/lub wyregulować płaszczyznę ogniskowania
- W warunkach suboptymalnych sygnały mogą wyglądać na rozlane. Jeśli dwa sygnały o tym samym kolorze stykają się ze sobą, odległość między nimi jest nie większa niż dwie szerokości sygnału lub istnieje cienkie pasmo łączące oba sygnały, należy zliczać je jako jeden sygnał
- W przypadku wątpliwości czy komórka nadaje się do analizy, nie należy jej analizować

Wytyczne dotyczące analizy — składnik LPA002	
	Nie zliczać — jądra są za blisko siebie, aby można było określić ich granice
	Nie zliczać jąder nakładających się na siebie — nie są widoczne całe obszary obu jąder
	Zliczyć jako jeden sygnał zielony, jeden sygnał pomarańczowy i dwa sygnały morskie — zielony sygnał jest rozlany
	Zliczyć jako jeden sygnał zielony, jeden sygnał pomarańczowy i dwa sygnały morskie — pomarańczowy sygnał jest rozlany
	Zliczyć jako jeden sygnał zielony, jeden sygnał pomarańczowy i dwa sygnały morskie — jeden z dwóch morskich sygnałów jest rozlany
	Zliczyć jako jeden sygnał zielony, jeden sygnał pomarańczowy i dwa sygnały morskie — przerwa w sygnale morskim jest mniejsza niż dwie szerokości sondy

Wytyczne dotyczące analizy — składnik LPA003	
	Nie zliczać — jądra są za blisko siebie, aby można było określić ich granice
	Nie zliczać jąder nakładających się na siebie — nie są widoczne całe obszary obu jąder
	Zliczyć jako dwa sygnały pomarańczowe i dwa sygnały zielone — jeden z dwóch zielonych sygnałów jest rozlany
	Zliczyć jako dwa sygnały pomarańczowe i dwa sygnały zielone — przerwa w jednym sygnale zielonym jest mniejsza niż dwie szerokości sygnału

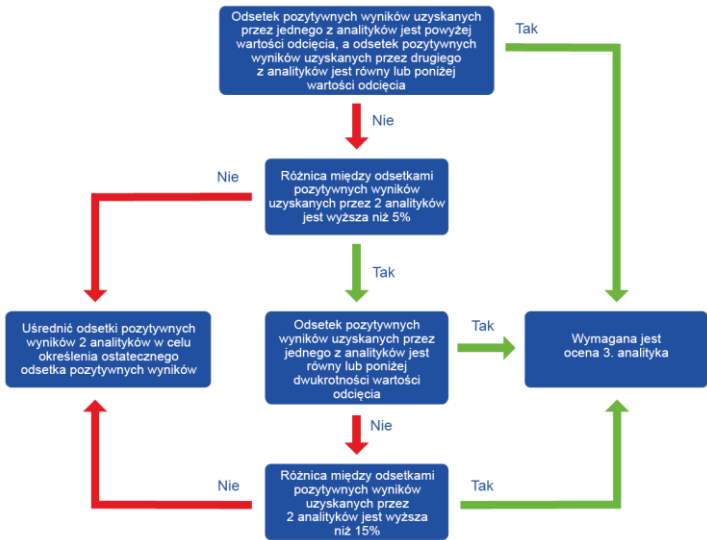
Wymagania dotyczące oceny trzeciego analityka

W zależności od liczby nieprawidłowych jąder zaobserwowanych przez każdego z analityków, wymagana może być ocena trzeciego analityka. Trzeci analityk przeanalizuje taką samą liczbę jąder co dwóch poprzednich analityków, postępując zgodnie z wytycznymi placówki oraz wytycznymi regionalnymi lub krajowymi. Szczegółowe zasady dotyczące oceny trzeciego analityka opisano poniżej i na schemacie blokowym.

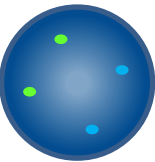
Ocena trzeciego analityka jest wymagana, jeśli:

- Odsetek pozytywnych wyników uzyskanych przez jednego z analityków jest powyżej wartości odcięcia, a odsetek pozytywnych wyników uzyskanych przez drugiego z analityków jest równy lub poniżej wartości odcięcia.
- Różnica między odsetkami pozytywnych wyników uzyskanych przez dwóch analityków jest wyższa niż 5% oraz odsetek pozytywnych wyników uzyskanych przez jednego z analityków jest równy lub poniżej dwukrotności wartości odcięcia.
- Różnica między odsetkami pozytywnych wyników uzyskanych przez dwóch analityków jest wyższa niż 15%.

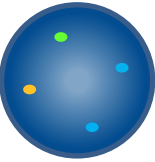
Spośród trzech uzyskanych odsetków pozytywnych wyników, dwa najbliższe zostaną uśrednione w celu określenia ostatecznego odsetka pozytywnych wyników. Jeżeli 3 uzyskane odsetki są jednakowo odległe, należy zastosować medianę wartości pozytywnych.



Oczekiwane wyniki
Składnik LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe
Wzorce oczekiwanych sygnałów wskazujących na stan prawidłowy

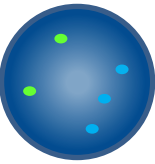


W prawidłowej komórce żeńskiej oczekiwane są dwa sygnały zielone i dwa sygnały morskie (2Z2M).

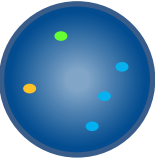


W prawidłowej komórce męskiej oczekiwane są jeden sygnał zielony, jeden sygnał pomarańczowy i dwa sygnały morskie (1Z1P2M).

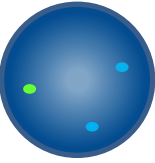
Wzorce oczekiwanych sygnałów wskazujących na stan nieprawidłowy



W komórce żeńskiej z trisomią 18. chromosomu wzorec oczekiwanych sygnałów to dwa sygnały zielone i trzy sygnały morskie (2Z3M).

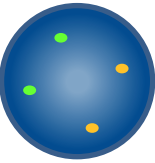


W komórce męskiej z trisomią 18. chromosomu wzorec oczekiwanych sygnałów to jeden sygnał zielony, jeden sygnał pomarańczowy i trzy sygnały morskie (1Z1P3M).



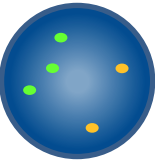
W komórce z zespołem Turnera wzorec oczekiwanych sygnałów to jeden sygnał zielony i dwa sygnały morskie (1Z2M).

Składnik LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe
Wzorec oczekiwanych sygnałów wskazujących na stan prawidłowy

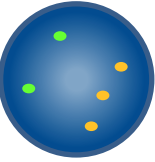


W prawidłowej komórce oczekiwane są dwa sygnały zielone i dwa sygnały pomarańczowe (2Z2P).

Wzorce oczekiwanych sygnałów wskazujących na stan nieprawidłowy



W komórce z trisomią 13. chromosomu oczekiwane są trzy sygnały zielone i dwa sygnały pomarańczowe (3Z2P).



W komórce z trisomią 21. chromosomu oczekiwane są dwa sygnały zielone i trzy sygnały pomarańczowe (2Z3P).

W przypadku próbek aneuploidalnych / z rearanżacją nie zrównoważoną mogą wystąpić inne wzorce sygnałów.

Znane istotne zakłócenia / substancje zakłócające
Brak znanych istotnych zakłóceń / substancji zakłócających.

Znana reaktywność krzyżowa
Sonda DXZ1 może wykazywać hybrydyzację krzyżową z centromerami chromosomów 1., 11., 17. i Y.
Sonda DYZ3 może wykazywać hybrydyzację krzyżową z centromerami chromosomów 13., 14., 15., 20., 21., 22. i X.
Sonda D18Z1 może wykazywać hybrydyzację krzyżową z centromerami chromosomów 2., 4., 8., 9., 13., 14., 15., 20., 21. i 22.

Zgłaszanie poważnych incydentów
Dotyczy pacjentów / użytkowników / podmiotów trzecich w Unii Europejskiej i w krajach o identycznym systemie regulacyjnym (Rozporządzenie (UE) 2017/746 w sprawie wyrobów medycznych do diagnostyki *in vitro*); jeśli podczas używania tego wyrobu lub w wyniku jego używania doszło do poważnego incydentu, fakt ten należy zgłosić wytwórcy oraz właściwemu organowi krajowemu.
W przypadku wystąpienia poważnych incydentów w innych krajach fakt ten należy zgłosić wytwórcy oraz, jeśli ma to zastosowanie, właściwemu organowi krajowemu. Kontakt do wytwórcy w sprawach dotyczących nadzoru nad produktami (ang. vigilance): vigilance@ogt.com
Wykaz punktów kontaktowych ds. nadzoru nad produktami dla krajowych właściwych organów w UE jest dostępny na stronie: https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en

Swoiste parametry skuteczności
Swoistość analityczna
Składnik LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe
Swoistość analityczna jest definiowana jako odsetek sygnałów, które hybrydują do właściwego locus i nie hybrydują do żadnej innej lokalizacji. Analizie poddano 4 loci chromosomowe w każdej z 20 komórek metafazowych w 5 próbkach, uzyskując łącznie po 100 punktów danych dla chromosomu X i chromosomu Y oraz 200 punktów danych dla chromosomu 18. Zmapowano lokalizację każdej zhybrydyzowanej sondy i zarejestrowano liczbę sygnałów FISH chromosomu metafazowego, które hybrydyzowały do właściwego locus.

Swoistość analityczną każdej sondy zawartej w zestawie obliczono jako liczbę sygnałów FISH chromosomu metafazowego zhybrydyzowanych do prawidłowego locus podzieloną przez całkowitą liczbę zhybrydyzowanych sygnałów FISH chromosomu metafazowego. Wynik ten wyrażano w formie wartości procentowej z 95-procentowym przedziałem ufności.

Tabela 1. Swoistość analityczna składnika LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Lokalizacja docelowa	Liczba chromosomów metafazowych, w których doszło do hybrydyzacji	Liczba loci, w których doszło do prawidłowej hybrydyzacji	Swoistość analityczna	95-procentowy przedział ufności
Xp11.1-q11.1	100	100	100%	96,30–100%
Yp11.1-q11.1	100	100	100%	96,30–100%
18p11.1-q11.1	200	200	100%	98,12–100%

Składnik LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe
Swoistość analityczna jest definiowana jako odsetek sygnałów, które hybrydują do właściwego locus i nie hybrydują do żadnej innej lokalizacji. Analizie poddano 4 loci chromosomowe w każdej z 20 komórek metafazowych w 5 próbkach, uzyskując łącznie po 200 punktów danych dla chromosomu 13. i 21. Zmapowano lokalizację każdej zhybrydyzowanej sondy i zarejestrowano liczbę sygnałów FISH chromosomu metafazowego, które hybrydyzowały do właściwego locus.

Swoistość analityczną każdej sondy zawartej w zestawie obliczono jako liczbę sygnałów FISH chromosomu metafazowego zhybrydyzowanych do prawidłowego locus podzieloną przez całkowitą liczbę zhybrydyzowanych sygnałów FISH chromosomu metafazowego. Wynik ten wyrażano w formie wartości procentowej z 95-procentowym przedziałem ufności.

Tabela 2. Swoistość analityczna składnika LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Lokalizacja docelowa	Liczba chromosomów metafazowych, w których doszło do hybrydyzacji	Liczba loci, w których doszło do prawidłowej hybrydyzacji	Swoistość analityczna	95-procentowy przedział ufności
13q14.2	200	200	100%	98,12–100%
21q22.1	200	200	100%	98,12–100%

Czułość analityczna
Składnik LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Czułość analityczna to odsetek komórek interfazowych nadających się do oceny z wzorcem oczekiwanych sygnałów wskazujących na stan prawidłowy. Dla każdej z utrwalonych zawieszin komórek uzyskanych z próbek płynu owodniowego 25 kariotypowo prawidłowych osób płci męskiej i 25 kariotypowo prawidłowych osób płci żeńskiej, u których potwierdzono prawidłową liczbę chromosomów 18., analizowano co najmniej 50 komórek interfazowych, uzyskując łącznie co najmniej 2500 jąder komórkowych poddanych ocenie. Dane dotyczące czułości przeanalizowano na podstawie odsetka komórek wykazujących wzorzec oczekiwanych sygnałów wskazujących na stan prawidłowy i wyrażono jako odsetek z 95-procentowym przedziałem ufności.

Tabela 3. Czułość analityczna składnika LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Typ próbki	Kryteria czułości	Wynik czułości
Płyn owodniowy	>95%	95,99% (95,15–96,69%)

Składnik LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Czułość analityczna to odsetek komórek interfazowych nadających się do oceny z wzorcem oczekiwanych sygnałów wskazujących na stan prawidłowy. Dla każdej z 25 utrwalonych zawieszin komórek uzyskanych z próbek płynu owodniowego kariotypowo prawidłowych osób płci męskiej lub żeńskiej, u których potwierdzono prawidłową liczbę chromosomów 13. i 21., analizowano co najmniej 50 komórek interfazowych, uzyskując łącznie co najmniej 1250 jąder komórkowych poddanych ocenie dla każdego typu próbki. Dane dotyczące czułości przeanalizowano na podstawie odsetka komórek wykazujących wzorzec oczekiwanych sygnałów wskazujących na stan prawidłowy i wyrażono jako odsetek z 95-procentowym przedziałem ufności.

Tabela 4. Czułość analityczna składnika LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Typ próbki	Kryteria czułości	Wynik czułości
Płyn owodniowy	>95%	96,24% (94,84–97,64%)

Charakterystyka wartości odcięcia dla stanu prawidłowego
Składnik LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Wartość odcięcia dla stanu prawidłowego jest definiowana jako odsetek komórek wykazujących wzorzec sygnałów fałszywie pozytywnych, przy którym stan osoby należy uznać za prawidłowy i niezgodny z rozpoznaniem klinicznym. Dla każdej z utrwalonych zawieszin komórek uzyskanych z próbek płynu owodniowego 25 kariotypowo prawidłowych osób płci męskiej i 25 kariotypowo prawidłowych osób płci żeńskiej, u których potwierdzono prawidłową liczbę chromosomów 18., analizowano co najmniej 50 komórek interfazowych, uzyskując łącznie co najmniej 2500 jąder komórkowych poddanych ocenie.

Wartość odcięcia ustalono przy użyciu funkcji β -odwrotności (BETAINV) w programie MS Excel. Obliczono ją jako odsetek komórek interfazowych wykazujących wzorzec sygnałów fałszywie pozytywnych przy zastosowaniu górnej granicy jednostronnego 95-procentowego przedziału ufności rozkładu dwumianowego w prawidłowej próbce pacjenta.

Tabela 5. Charakterystyka wartości odcięcia dla stanu prawidłowego dla składnika LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Typ próbki	Wzorzec sygnałów	Wartość odcięcia
Płyn owodniowy	1Z1P3M	11,62%
	2Z3M	8,97%
	1Z2M	13,98%

Składnik LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Wartość odcięcia dla stanu prawidłowego jest definiowana jako odsetek komórek wykazujących wzorzec sygnałów fałszywie pozytywnych, przy którym stan osoby należy uznać za prawidłowy i niezgodny z rozpoznaniem klinicznym. Dla każdej z utrwalonych zawieszin komórek uzyskanych z próbek płynu owodniowego 25 kariotypowo prawidłowych osób płci męskiej lub żeńskiej analizowano co najmniej 50 komórek interfazowych, uzyskując co najmniej 1250 jąder komórkowych poddanych ocenie dla każdego typu próbki.

Wartość odcięcia ustalono przy użyciu funkcji β -odwrotności (BETAINV) w programie MS Excel. Obliczono ją jako odsetek komórek interfazowych wykazujących wzorzec sygnałów fałszywie pozytywnych przy zastosowaniu górnej

granicy jednostronnego 95-procentowego przedziału ufności rozkładu dwumianowego w prawidłowej próbce pacjenta.

Tabela 6. Charakterystyka wartości odcięcia dla stanu prawidłowego dla składnika LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Typ próbki	Wzorzec sygnałów	Wartość odcięcia
Płyn owodniowy	2Z3P	8,97%
	3Z2P	

Laboratoria muszą zweryfikować wartości odcięcia w oparciu o własne dane^{13,14}.

Precyzja
Składnik LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Precyzję tego produktu zmierzono w kategoriach precyzji w ramach dnia (między próbkami), precyzji między dniami oraz precyzji między seriami w jednym ośrodku.

Do oceny precyzji tego produktu wykorzystano 3 próbki: 1 próbka prawidłowego płynu owodniowego osoby płci męskiej, dla której potwierdzono obecność chromosomów XY oraz prawidłową liczbę chromosomu 18., 1 próbka prawidłowego płynu owodniowego osoby płci żeńskiej, dla której potwierdzono obecność chromosomów XX oraz prawidłową liczbę chromosomu 18. i 1 próbka słabo pozytywnego płynu owodniowego osoby płci żeńskiej z trisomią 18. chromosomu.

Precyzję między dniami i w ramach dnia oceniono poprzez badanie próbek w trzech powtórzeniach przez 10 nienastępujących bezpośrednio po sobie dni. Precyzję między seriami oceniono poprzez badanie tych samych próbek w trzech powtórzeniach przy użyciu 3 osobnych serii produktu. Wyniki przedstawiono jako zgodność ogółem z przewidywaną klasyfikacją (pozytywną lub negatywną).

Tabela 7. Odtwarzalność i precyzja składnika LPA002 Prenatal X, Y, and 18 Enumeration Probe

Zmienna	Typ próbki	Zgodność
W ramach dnia	Negatywny płyn owodniowy osoby płci żeńskiej	100,0%
	Płyn owodniowy osoby płci żeńskiej z trisomią 18. chromosomu	90,0%
Między dniami	Negatywny płyn owodniowy osoby płci żeńskiej	100,0%
	Płyn owodniowy osoby płci żeńskiej z trisomią 18. chromosomu	90,0%
	Negatywny płyn owodniowy osoby płci męskiej	100,0%
Między seriami	Negatywny płyn owodniowy osoby płci żeńskiej	100,0%
	Płyn owodniowy osoby płci żeńskiej z trisomią 18. chromosomu	100,0%
	Negatywny płyn owodniowy osoby płci męskiej	100,0%

Składnik LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Precyzję tego produktu zmierzono w kategoriach precyzji w ramach dnia (między próbkami), precyzji między dniami oraz precyzji między seriami w jednym ośrodku.

Do oceny precyzji tego produktu wykorzystano 3 próbki: 1 próbka prawidłowego płynu owodniowego, dla której potwierdzono prawidłową liczbę chromosomów 13. i 21., 1 próbka słabo pozytywnego płynu owodniowego z trisomią 13. chromosomu i 1 próbka słabo pozytywnego płynu owodniowego z trisomią 21. chromosomu.

Precyzję między dniami i w ramach dnia oceniono poprzez badanie próbek w trzech powtórzeniach przez 10 nienastępujących bezpośrednio po sobie dni. Precyzję między seriami oceniono poprzez badanie tych samych próbek w trzech powtórzeniach przy użyciu 3 osobnych serii produktu. Wyniki przedstawiono jako zgodność ogółem z przewidywaną klasyfikacją (pozytywną lub negatywną).

Tabela 8. Odtwarzalność i precyzja składnika LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Zmienna	Typ próbki	Zgodność
W ramach dnia i między dniami	Negatywny płyn owodniowy	100,0%
	Słabo pozytywny płyn owodniowy z trisomią 13. chromosomu	100,0%
	Słabo pozytywny płyn owodniowy z trisomią 21. chromosomu	96,7%
Między seriami	Negatywny płyn owodniowy	88,9%
	Słabo pozytywny płyn owodniowy z trisomią 13. chromosomu	100,0%
	Słabo pozytywny płyn owodniowy z trisomią 21. chromosomu	100,0%

Skuteczność kliniczna

Składnik LPA002 Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

W celu zapewnienia, że zestaw Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe wykrywa rearanżacje, do których oceny jest przeznaczony, ustalono skuteczność kliniczną produktu w oparciu o jedno badanie wykonane na reprezentatywnych próbkach populacji docelowej dla tego produktu: pozostałościach materiału uzyskanego z próbek płynu owodniowego pobranego w trakcie ciąży, utrwalonych za pomocą roztworu metanol / kwas octowy w stosunku 3:1. Wielkość próby tego badania wynosiła 71 próbek, przy czym populacja liczyła 3 próbki pozytywne względem trisomii 18. chromosomu, 2 próbki pozytywne względem monosomii chromosomu X i 66 próbek negatywnych. Z wszystkich próbek usunięto dane umożliwiające identyfikację pacjentów i poddano je randomizacji, aby uniknąć obciążenia systematycznego analizy. Wyniki porównywano ze znanym statusem próbek. Sonda prawidłowo zidentyfikowała statusy próbek we wszystkich przypadkach.

Uzyskane wyniki tych testów przeanalizowano w celu obliczenia czułości klinicznej, swoistości klinicznej i odsetka wyników fałszywie pozytywnych (FPR) dla sygnałów pozytywnych, stosując podejście jednowymiarowe.

Tabela 9. Skuteczność kliniczna składnika Prenatal X, Y and 18 Enumeration Probe

Zmienna	Wynik
Czułość kliniczna (odsetek wyników prawdziwie pozytywnych, TPR)	100,0%
Swoistość kliniczna (odsetek wyników prawdziwie negatywnych, TNR)	100,0%
Odsetek wyników fałszywie pozytywnych (FPR) = 1 — swoistość	0,0%

Składnik LPA003 Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

W celu zapewnienia, że zestaw Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe wykrywa rearanżacje, do których oceny jest przeznaczony, ustalono skuteczność kliniczną produktu w oparciu o trzy badania wykonane na reprezentatywnych próbkach populacji docelowej dla tego produktu: pozostałościach materiału uzyskanego z próbek płynu owodniowego pobranego w trakcie ciąży, utrwalonych za pomocą roztworu metanol / kwas octowy w stosunku 3:1. Wielkość próby tego badania wynosiła 172 próbki, przy czym populacja liczyła 15 próbek pozytywnych względem trisomii 13. chromosomu i 157 próbek negatywnych względem trisomii 13. chromosomu, oraz łącznie 109 próbek pozytywnych względem trisomii 21. chromosomu i 63 próbki negatywne względem trisomii 21. chromosomu. Wyniki porównywano ze znanym statusem próbek. Sonda prawidłowo zidentyfikowała statusy próbek we wszystkich przypadkach.

Uzyskane wyniki tych testów przeanalizowano w celu obliczenia czułości klinicznej, swoistości klinicznej i odsetka wyników fałszywie pozytywnych (FPR) dla sygnałów pozytywnych, stosując podejście jednowymiarowe.

Tabela 10. Skuteczność kliniczna zestawu Prenatal 13 and 21 Enumeration Probe

Zmienna	Wynik
Czułość kliniczna (odsetek wyników prawdziwie pozytywnych, TPR)	100,0%
Swoistość kliniczna (odsetek wyników prawdziwie negatywnych, TNR)	100,0%
Odsetek wyników fałszywie pozytywnych (FPR) = 1 — swoistość	0,0%

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności (SSP)

Dokument SSP jest udostępniany publicznie za pośrednictwem europejskiej bazy danych o wyrobach medycznych (Eudamed), w której powiązany jest z kodem Basic UDI-DI. Adres URL bazy danych Eudamed: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> Kod Basic UDI-DI: 50558449LPA001GG

Jeśli baza danych Eudamed nie jest w pełni funkcjonalna, dokument SSP jest udostępniany publicznie na żądanie przesłane na adres e-mail SSP@oqt.com.

Dodatkowe informacje

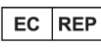
W celu uzyskania dodatkowych informacji na temat produktu należy skontaktować się z działem wsparcia technicznego firmy CytoCell. Tel.: +44 (0)1223 294048 E-mail: techsupport@cytoCELL.com Strona WWW: www.oqt.com

Piśmiennictwo

1. Alliance G,(2010). Chromosomal Abnormalities [Internet]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132134/>.
2. Dey M, et al., (2013). Prenatal screening methods for aneuploidies. North American Journal of Medical Sciences.
3. Antonarakis SE, Strydom A., (2020). Down Syndrome. Nature Reviews Disease Primers.
4. Orphanet: Down syndrome [Internet]. www.orpha.net. Dostępne na stronie: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/870>.
5. Orphanet: Trisomy 13 [Internet]. www.orpha.net. Dostępne na stronie: <https://www.orpha.net/en/disease/detail/3378>.
6. Pyle AK, et al. (2025) Guidance for Caring for Infants and Children With Trisomy 13 and Trisomy 18: Clinical Report. PEDIATRICS.

7. Balasundaram P, et al. (2023). Edwards syndrome. W: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; styczeń 2025. Aktualizacja: 15 lutego 2025 r. Dostępne na stronie: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570597/>.
8. Shankar Kikkeri N, et al., (2023). Turner Syndrome; dostępne na stronie: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554621/>.
9. Best Practice Guidelines (2024). The Association for Clinical Genomic Science (ACGS). Cytogenetics Constitutional Guidelines.
10. NHS England - National genomic test directory for rare and inherited disease. Dostępne na stronie: <https://www.england.nhs.uk/publication/national-genomic-test-directories/>
11. Silva M. et al. (2019) European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. European Journal of Human Genetics.
12. Arsham, MS., Barch, MJ. and Lawce HJ. (eds.) (2017) *The AGT Cytogenetics Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc. References
13. Mascarello JT, Hirsch B, Kearney HM, et al. Section E9 of the American College of Medical Genetics technical standards and guidelines: fluorescence in situ hybridization. Genet Med. 2011;13(7):667-675.
14. Wiktor AE, Dyke DLV, Stupca PJ, Ketterling RP, Thorland EC, Shearer BM, Fink SR, Stockero KJ, Majorowicz JR, Dewald GW. *Preclinical validation of fluorescence in situ hybridization assays for clinical practice*. Genetics in Medicine. 2006;8(1):16–23.

Legenda symboli

EN ISO 15223-1:2021 — „Wyroby medyczne — Symbole do stosowania w informacjach dostarczanych przez wytwórcę — Część 1: Wymagania ogólne” (© International Organization for Standardization)		
Symbol	Tytuł	Numer referencyjny
	pl: Wytwórca	5.1.1
	pl: Autoryzowany przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej / w Unii Europejskiej	5.1.2
	pl: Użyć do daty	5.1.4
	pl: Kod partii	5.1.5
	pl: Numer katalogowy	5.1.6
	pl: Trzymać z dala od światła słonecznego	5.3.2
	pl: Dopuszczalna temperatura	5.3.7
	pl: Zajrzyj do instrukcji używania	5.4.3
	pl: Zajrzyj do elektronicznej instrukcji używania	5.4.3
	pl: Ostrzeżenie	5.4.4
	pl: Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>	5.5.1
	pl: Zawartość wystarczająca do <n> testów	5.5.5
	pl: Niepowtarzalny identyfikator urządzenia	5.7.10
Symbole EDMA dla odczynników i składników IVD, wersja: październik 2009 r.		
Symbol	Tytuł	Numer referencyjny
	pl: Zawartość (lub zawiera)	Nd.

Patenty i znaki towarowe

CytoCell jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy CytoCell Limited.



CytoCell Limited

Oxford Gene Technology
418 Cambridge Science Park
Milton Road
CAMBRIDGE
CB4 0PZ
WIELKA BRYTANIA

Tel.: +44 (0)1223 294048

E-mail: probes@cytoCell.com

Strona WWW: www.ogt.com



Sysmex Europe SE

Deelbøge 19 D
22297 Hamburg
NIEMCY

Strona WWW: www.sysmex-europe.com

Historia wersji instrukcji użytkownika

V001 2026-03-09: Nowa instrukcja użytkownika zgodna z rozporządzeniem (UE)
2017/746